

総説

藻類の石灰化機構

岡崎恵視・古谷庫造

東京学芸大学生物学教室 (〒184 小金井市貫井北町 4-1-1)

OKAZAKI, M. and FURUYA, K. 1985. Mechanisms in algal calcification. Jap. J. Phycol. 33: 328-344.

Calcium carbonate deposition in the Haptophyta, Chlorophyta, Rhodophyta, Phaeophyta and Charophyta is described from several points of view. Anatomical studies of many calcareous marine algae have shown that calcification is initiated intracellularly (coccolithophorids) or in a semi-enclosed space, i. e. in the intercellular space (*Halimeda*, Corallinaceae, *Galaxaura*, *Liagora* and *Padina*) or in a thickened cell wall (*Acetabularia*). A carbonic ion-concentrating system is coupled with photosynthetic CO₂ fixation. An increase in pH of the semi-enclosed medium is caused by photosynthesis, resulting in the formation of carbonic ions from bicarbonate ions. Calcifications of *Halimeda* and *Chara*, and possibly of most other algae depend on this process. A calcium-transport system is expected to occur especially in intracellular calcification such as coccolith formation (coccolithophorids), but no Mg²⁺-Ca²⁺-ATPase (Ca²⁺-pump) has been found in calcareous algae including coccolithophorids. Calcium-binding substances such as acid polysaccharides in the intercellular space or cell wall seem to play an important role in the polymorphism of the CaCO₃ deposited. A coccolith-polysaccharide of coccolithophorids and alginic acid of Corallinaceae may form calcite characteristic of these algae in spite of the presence of Mg²⁺ in the medium. However, the aragonite-inducing property of Mg²⁺ predominates in aragonite-depositing marine algae (*Halimeda*, *Acetabularia*, *Galaxaura*, *Liagora* and *Padina*).

Key Index Words: Acetabularia; algae; calcification; calcium carbonate; Chara; coccolithophorids; Corallinaceae; Galaxaura; Halimeda; Liagora; Padina.
Megumi Okazaki and Kurazo Furuya, Department of Biology, Tokyo Gakuzei University, 4-1-1 Nukuikita-machi, Koganei-shi, Tokyo, 184 Japan.

藻類のなかで藻体に多量の CaCO₃ を沈着する藻は、総称して石灰藻 (Calcareous algae) と呼ばれている。分類学的には、藍藻、渦鞭毛藻、ハプト藻、紅藻、褐藻、緑藻、車軸藻等、種々の植物門に広く分布しており (BOROWITZKA 1977, 1982a, b, PENTECOST 1980)、互に類縁関係が乏しいことから見て、それぞれの石灰藻はそれぞれ独自に石灰化する能力を獲得したものと考えられる。これらの藻、例えば、紅藻 サンゴモ科や、緑藻 サボテングサ属等の石灰藻が形成する多量の CaCO₃ は、サンゴ礁形成に重要な役割をもち (GOREAU 1963)、また、世界の海洋に広い分布域をもつハプト藻の円石藻類は、中生代白亜紀の石灰岩を形成したと考えられている (BLACK 1965)。この様に石灰藻は生態

学的にも、地球化学的にも、重要な意味をもつ藻である。

これら石灰藻の石灰化機構を解明するには、少なくとも (1) 石灰化部位へどのようにして、Ca²⁺ や CO₃²⁻ が供給され濃縮されるか、(2) CaCO₃ 結晶の核となり、その生長を助ける物質が存在するか、またどの様にして結晶形 (方解石、アラレ石及びバテライトのいずれか) が緻密に規定されるのか、(3) 石灰化を阻止する機構、等について明らかにしなければならない。これは単に藻の石灰化に留まらず、動物を含めた生物界の石灰化機構を解明する上で共通した問題である。これまでに蓄積された動・植物の石灰化部位の構造や微細構造の知見は、上述の諸問題を解決する上での重要な手掛かりを提供しつつある。

著者らはこの論文では、主な石灰藻の石灰化が藻体のどの様な部位で開始され進行するかについて、これまでに得られている形態学的知見を述べたい。また光合成及び Ca 輸送系が藻の石灰化とどの様に関連しているか、更に石灰化部位の有機物質の性質と石灰化との関連についても解説したい。なお、石灰藻に関する幾つかの総説が岡崎 (1979)、オーストラリアの BOROWITZKA (1977, 1982a, b)、イギリスの PENTECOST (1980) によって既にかかれていたのでそれらも参照されたい。

1. ハプト藻 (Figs 1-2)

石灰化開始部位: この植物門に属する円石藻 (Coccolithophorids) は、単細胞性の石灰藻である。室内で培養され、石灰化機構の研究によく用いられている種に、*Emiliania huxleyi*, *Cricosphaera* (= *Himnomonas*) *carterae* がある。これらの藻は、細胞の外側にココリス (coccolith, 直径約 $1\ \mu\text{m}$) と呼ばれる CaCO_3 と有機物から成る殻をつける。ココリスは、細胞表面に付着しているので、一見その部位で石灰化が進行したかの様に見える。しかし、実際には細胞内のゴルジ体由来の小胞 (ココリス小胞) で形成され、細胞外へ押し出される (WILBUR and WATABE 1963, OUTKA and WILLIAMS 1971, その他多数)。Fig. 1 は *C. carterae* のココリス形成過程を模式的に示したもの

である。まず小胞中で有機物質からなる殻が作られ、これにココリスゾームと呼ばれる小顆粒 (直径約 $25\ \text{nm}$) の付着後 CaCO_3 が沈着してココリスが完成される。ココリスゾームを分析用電子顕微鏡で分析した結果、多量の Ca が検出されている (VAN DER WAL *et al.* 1982)。ただ *E. huxleyi* にはこの様な小顆粒は観察されていない。*C. carterae* には、ココリスとは別に石灰化していない殻も作られるので、細胞表面には2種の殻が付着することになる。ココリスの形態は種によって異なるが、これは細胞内の特殊な小胞がココリス形態を厳密に制御しているためと思われる。細胞内で石灰化が進行する藻は他に例を見ない。Fig. 2 は、*C. roscoffensis* var. *haptanemofera* (INOUE and CHIHARA 1979) の走査型電顕像である。ココリスの表面に方解石の結晶が見られる。

光合成との関連: ココリス形成が光依存性を示すことは、*E. huxleyi* (PAASCHE 1964) や *C. carterae* (VAN DER WAL *et al.* 1982) でよく知られている。PAASCHE (1964) はこの現象を石灰化と光合成を共役させる次式で説明しようとした。 $\text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CO}_2 + \text{OH}^- \cdots (1)$ (光合成), $\text{HCO}_3^- + \text{OH}^- \rightarrow \text{CO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} \cdots (2)$

しかしココリス形成能を失った変異株も光合成の炭素源に HCO_3^- を使って、正常のものと同ほとんど変らぬ速度で光合成を行うことから、上記反応が石灰化に重

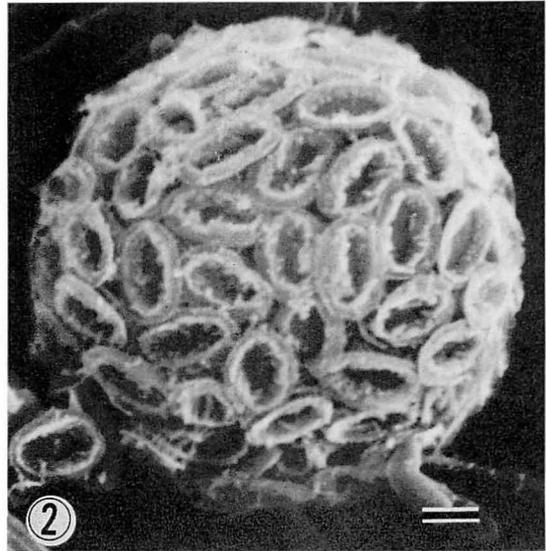
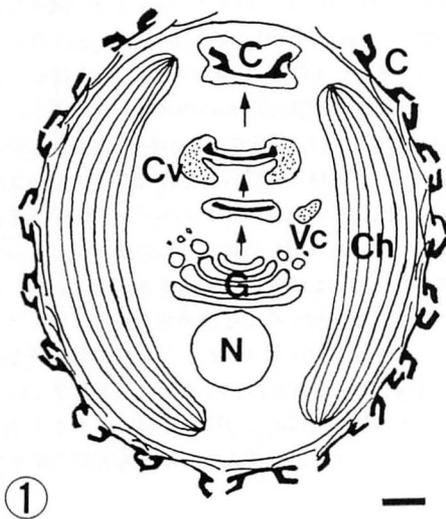


Fig. 1. Schematic diagram of coccolith formation in *Cricosphaera carterae*. Coccoliths are formed intracellularly in the vesicles originated from Golgi-body. C, coccolith; Ch, chloroplast; Cv, coccolith vesicle containing basal plate and coccolithosomes; G, Golgi-body, N, nucleus; Vc, vesicle containing coccolithosomes. Scale = $1\ \mu\text{m}$. Fig. 2. Scanning electron micrograph of *C. roscoffensis* var. *haptanemofera*. Scale = $1\ \mu\text{m}$.

要な反応であるにしても、この反応のみでは石灰化反応を説明できないことが明らかになっている (PASASCHE 1964)。

Ca 輸送系: この藻の石灰化開始部位が細胞内であることから、海水中から細胞内へ、またココリス小胞内へどのような仕組みで Ca^{2+} が輸送されるかが従来から注目されてきた。C. *carterae* で、照射射のみ細胞内へ Ca^{2+} が取り込まれるといった報告もある (ARIOVICH and PIENAAR 1979)。著者らは動物細胞 (例えば、赤血球細胞膜、筋小胞体膜等) に見られる Ca^{2+} 活性化 Mg^{2+} 依存性 ATPase (Ca^{2+} -ポンプ) を C. *roscoffensis* var *haptanemofera* で探したが、その様な酵素活性を見出すことが出来なかった (OKAZAKI *et al.* 1984)。また、その様な酵素は植物細胞ではまだ発見されていない (HODGES 1976)。しかし、 Mg^{2+} -依存性又は Ca^{2+} -依存性 ATPase の活性は認めることが出来た。酵母細胞の液胞膜には、 Mg^{2+} -ATPase の働きで H^+ を濃縮する働きがあり (H^+ -ポンプ)、この濃縮された H^+ が液胞外へ流出するのに共役して Ca^{2+} が取り込まれる機構 ($\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ 対向輸送系) が知られているので (OHSUMI and ANRAKU 1983)、円石藻の液胞、又はココリス小胞にはこの様な Ca 輸送系がある可能性も考えられる。

CaCO₃ 結晶・有機基質: ココリスを構築する CaCO₃ はすべて方解石である。藻体からココリスが単離され、これから Ca^{2+} を特異的に結合する酸性多糖が抽出された (DE JONG *et al.* 1976)。ココリスはほぼこの多糖と CaCO₃ 結晶から構築されており、かつ CaCO₃ 結晶の芯となっているらしい。この Ca^{2+} 結合多糖は、ガラクトuron酸をかなり含み (約20%w/w)、それ以外に、11種の中性糖及びそのメチル化糖を含む極めて複合性の高いものである (FICHTINGER-SCHEPMAN *et al.* 1979)。この多糖を使って *in vitro* で CaCO₃ を形成する実験が試みられている (BORMAN *et al.* 1982)。

2. 緑藻

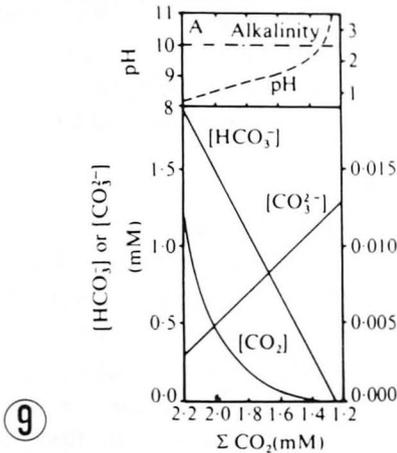
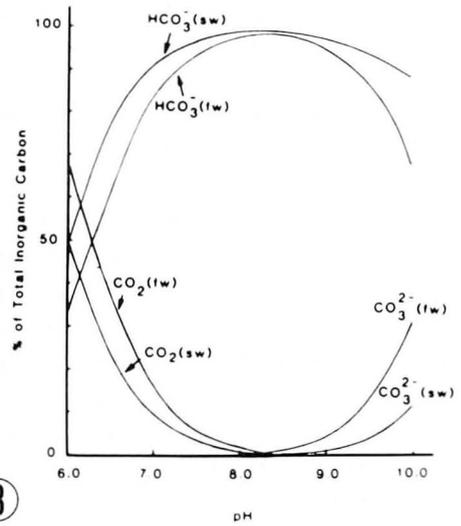
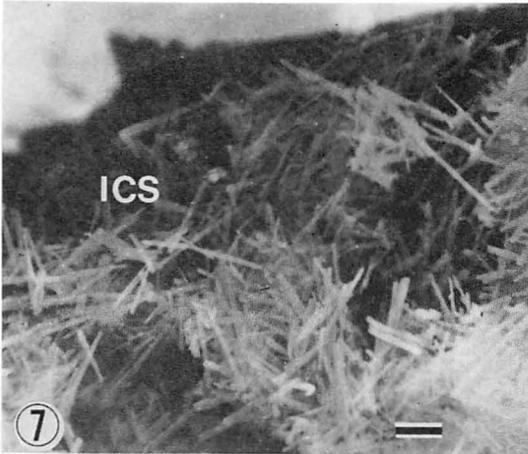
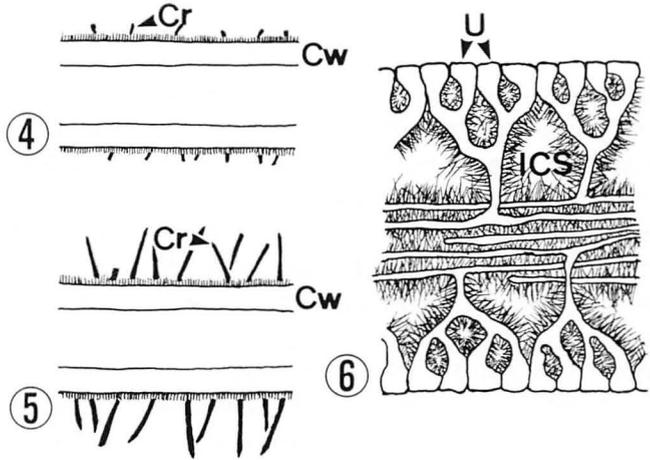
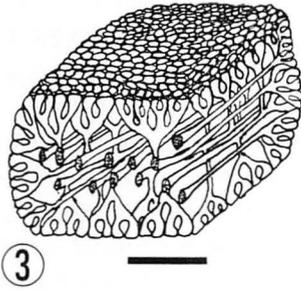
(1) サボテングサ属 (Figs 3-9)

石灰化開始部位: 多核巨大細胞で、管状系が集まり藻体が構築されているので、細胞間隙が良く発達している (Fig. 3)。この間隙は細胞外ではあるが、藻体内部に相当し、海水とは隔離された半閉鎖空間であり、石灰化はこの特殊な空間で起こる。まず微小な結晶が管状系の細胞壁表層に層状に付着している繊維状物質の上で形成される (WILBUR *et al.* 1969, BOROWITZKA and LARKUM 1977) (Fig. 4)。この結晶は徐々に生長して針状結晶 (長さ約 3-5 μm , 幅約 0.2 μm)

となり、最終的には細胞間隙を埋め尽くす (Figs 5, 6)。細胞壁そのものは石灰化しない。上述の過程は藻体の先端 (第一節間部) の若い組織で開始され、組織の成熟に伴って進行し終了する。Fig. 7 はウチワサボテングサ (*Halimeda discoidea*) の細胞間隙に沈着した針状結晶の走査型電顕像である。石灰化が完了した部位の形態については多くの報告がある (例えば、BOROWITZKA *et al.* 1974, 岡崎ら 1977, BÖHM *et al.* 1978, BOROWITZKA 1982a)。

光合成との関連: BOROWITZKA and LARKUM (1977) は藻体先端の若い組織で、藻体表面の小嚢が互に融着して海水から隔離された細胞間隙を形成し、かつその葉緑体が成熟すると石灰化が開始されることを明らかにした。また生理学的な研究から、暗所に比べて明所では石灰化が促進されること、その促進の程度は光合成速度に比例することをつきとめた。これらの事実は、細胞間隙といった半閉鎖空間における炭酸の平衡と石灰化及び光合成が密接に関連することを示している。そこで彼等は半閉鎖空間で、光合成により CO₂ が固定消費された場合、炭酸平衡がどの様に变化するかを PARK (1969) の式を用いて理論的に解析し、サボテングサの石灰化機構の1つのモデルを提唱した。また実験によりそれを或る程度証明した (BOROWITZKA and LARKUM 1976b, c, BOROWITZKA 1982b)。Fig. 8 は海水及び淡水の pH と炭酸の3つの分子種 (CO₂, HCO₃⁻, CO₃²⁻) の存在比の関係を示す。図から、海水の pH (8.2) が上昇するに伴って HCO₃⁻ が減少し CO₃²⁻ が増加することが判る。光合成で CO₂ が半閉鎖空間から消費され続けると、3つの分子種がどの様に变化するかを推定したものが Fig. 9 である。CO₂ の固定 (または HCO₃⁻ を細胞内に取込み HCO₃⁻ → CO₂ + OH⁻ の反応で CO₂ を光合成に用いて余った OH⁻ の細胞外への排出) によって全炭酸 (ΣCO_2) は減少するにもかかわらず、pH と CO₃²⁻ は著しく増加することが予想される。ウチワサボテングサや *Halimeda tuna* などでの細胞間隙ではまさに Fig. 9 に示された様な炭酸平衡が起きているらしい。この様な局所的な pH の上昇、つまり CO₃²⁻ の増加は海水と接する藻体表面では殆んど期待出来ない。

Ca 輸送系: 主な Ca^{2+} は、海水から小嚢の細胞壁へ拡散して細胞間隙に供給されると考えられている (BOROWITZKA and LARKUM 1976a)。いったん細胞内に取り込まれた Ca^{2+} が細胞間隙に排出され濃縮される可能性もあるが、この輸送系については良く判ら



Figs 3-6. Schematic diagrams of calcification processes in *Halimeda* (OKAZAKI 1979). Cr, aragonite crystal; Cw, cell wall; ICS, intercellular space; U, utricle. Fig. 3. Structure of thallus of *H. discoidea*. Scale = 100 μm. Fig. 4. Small crystals on the pilose layer of filament wall of the subapical segment. Fig. 5. More advanced stage of crystal development. Fig. 6. Needle-shaped aragonite crystals filling the ICS. Fig. 7. Scanning electron micrograph of needle-shaped crystals in the ICS of *H. discoidea*. Scale = 1 μm. Fig. 8. Relative proportion of CO₂(+H₂CO₃), HCO₃⁻ and CO₃²⁻ with changing pH in seawater (sw) and freshwater (fw) (BOROWITZKA 1982b). Fig. 9. Calculated effects of removal of CO₂ from a closed seawater system. The figure shows the effect of removing 0.05 mM increments of CO₂ by photosynthesis (BOROWITZKA and LARKUM 1976b).

ていない。

CaCO₃ 結晶・有機基質：針状（長さ約 3-5 μm, 幅約 0.2 μm）を呈したアラレ石である。前述の様に石灰化開始部位には繊維状物質が存在するので、この物質が石灰化を誘導する核として作用すると思われる。しかしその化学的性質については不明である。細胞壁からはウロン酸と硫酸基を含む Ca²⁺ 結合能をもった多糖が抽出されており、細胞壁中の Ca²⁺ プールに一役を演じている可能性も指摘されている (BÖHM and GOREAU 1973)。中原ら (NAKAHARA and BEVELANDER 1978) はミツデサボテングサ (*Halimeda incrassata*) の針状結晶は有機物の鞘 (envelope) で覆われていることを見出した。この様な鞘は以前から軟体動物の貝殻において、真珠層のアラレ石結晶の囲りに知られており、結晶生長を助けるものと考えられている (中原 1981)。しかしサボテングサの場合は、結晶表面への有機物の単なる吸着であるとも言われている (BOROWITZKA and LARKUM 1977)。

(2)カサノリ属 (Figs 10-16)

石灰化開始部位：この藻も多核巨大細胞である。先端生長し、柄においては age の若い先端から age の進んだ基部に向かって細胞壁内で石灰化が進行することが判った。培養したホソエガサ (*Acetabularia calyculus*) の傘形成直前の幼藻体 (Fig. 10) の柄の石灰化過程を模式的に示したのが Figs 11-14 である (OKAZAKI and KATSUMI 1984)。柄の先端部 (Fig. 10, 矢印 A) では壁は石灰化していないが、石灰化誘導物質と思われる電子密度の高い物質が壁中に分泌されることが明らかになった (Fig. 11)。この物質は age の少し進んだ部分では結晶を誘導して微小な結晶の集合体と思われるイガグリ状の構造物 (直径約 0.8 μm) を形成する (Fig. 12)。柄の中間部 (Fig. 10, 矢印 B) の壁では、前述のイガグリ状構造物から顆粒状 (直径約 0.2 μm) の結晶が形成される (Fig. 13)。柄の基部 (Fig. 10, 矢印 C) では、結晶は更に生長するが、あるものはしばしば互に融合して結晶塊 (最大長径約 0.5 μm) を形成する。こうして柄の基部では石灰化は完了するが、壁中に次々と分泌される前述の特殊な物質の働きによって壁の中層は大小の結晶で埋め尽くされる (Fig. 14)。しかし壁の外層には石灰化は見られない。この様な石灰化過程は自然に生育するカサノリ (*A. ryukyuensis*) の柄においても観察された (岡崎・伊佐, 未発表)。Fig. 15 は壁中の前述のイガグリ状の微結晶の集合体の、また Fig. 16 は石灰化の完了した壁の透過型電顕像である。

光合成との関連：柄の石灰化と壁の厚さとの間には密接な関連があり、基部における壁の厚さが 15~22 μm 程度に達しないと、石灰化誘導物質の分泌はあっても Figs 13, 14 に見られる様な CaCO₃ 結晶の沈着は起きない (OKAZAKI and KATSUMI 1984)。また Figs 14, 16 が示す様に、石灰化が完了した柄でも壁外層は石灰化しないままに残る。これらの事実は肥厚した細胞壁の中、内層は一種の半閉鎖空間に相当すると考えれば説明できる。つまり光合成に伴った pH の上昇、CO₃²⁻ の増加が起これ、これが石灰化に貢献すると思われる。しかしこれを証明した生理学的研究はまだ無い。

Ca 輸送系：海水から拡散によって細胞壁へ供給されると思われる。

CaCO₃ 結晶・有機基質：粒状のアラレ石 (直径 0.1~0.5 μm) である。細胞壁中へ分泌される前述の物質の化学的組成は不明であるが、未染色でも電子密度が高く、分析用電子顕微鏡で分析すると Ca が多量に検出されるので、一種の Ca²⁺ 結合物質かも知れない (岡崎・勝見, 未発表)。カサノリの細胞壁はマンナンが主成分であるが、酸性多糖も存在するので (PUISEUX-DAO 1970)、後者と石灰化との関連に興味もたれる。

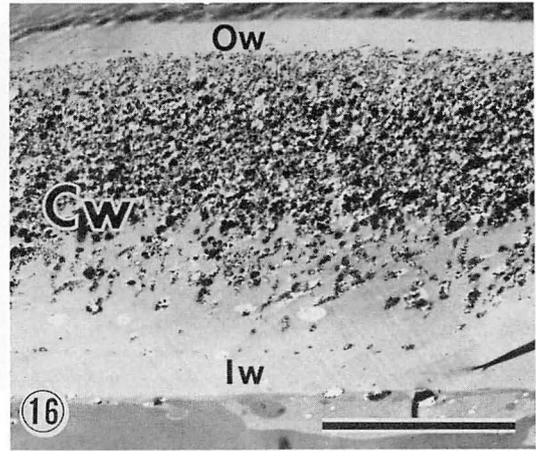
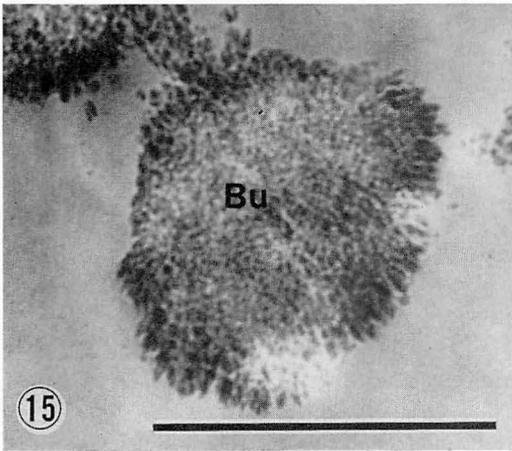
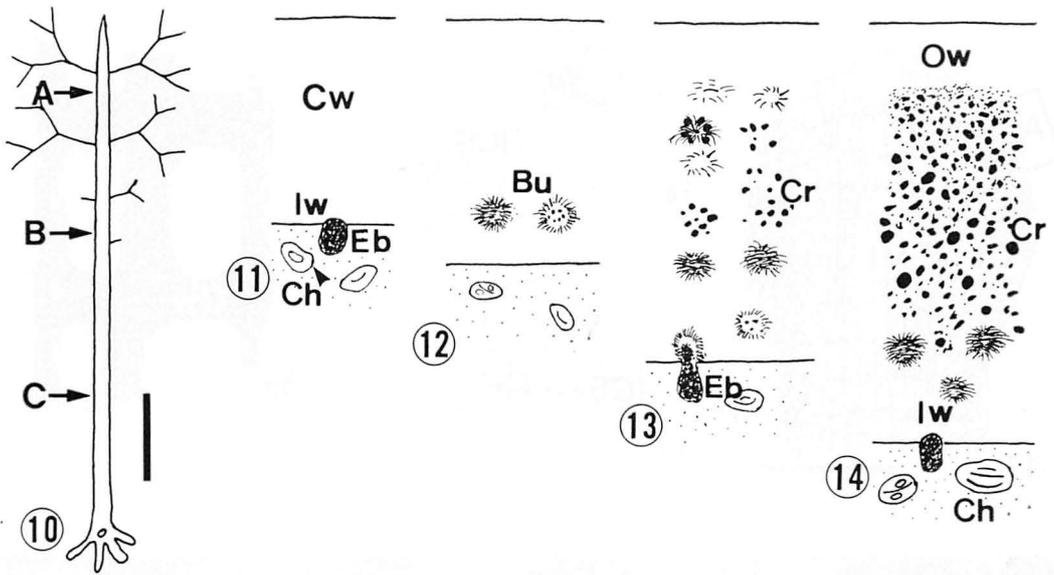
(3)ハゴロモ属, ウサガサネ属

この仲間は細胞間隙が主な石灰化部位であるが、小囊の肥厚した細胞壁の一部にも石灰化が見られる (BÖHM *et al.* 1978)。結晶はすべてアラレ石で細胞間隙に沈着したものは針状を、壁のものは粒状を呈する。石灰化過程を追跡した報告はまだ無いが、サボテングサ属やカサノリ属のものと同様な機構で石灰化が起こるものと思われる。

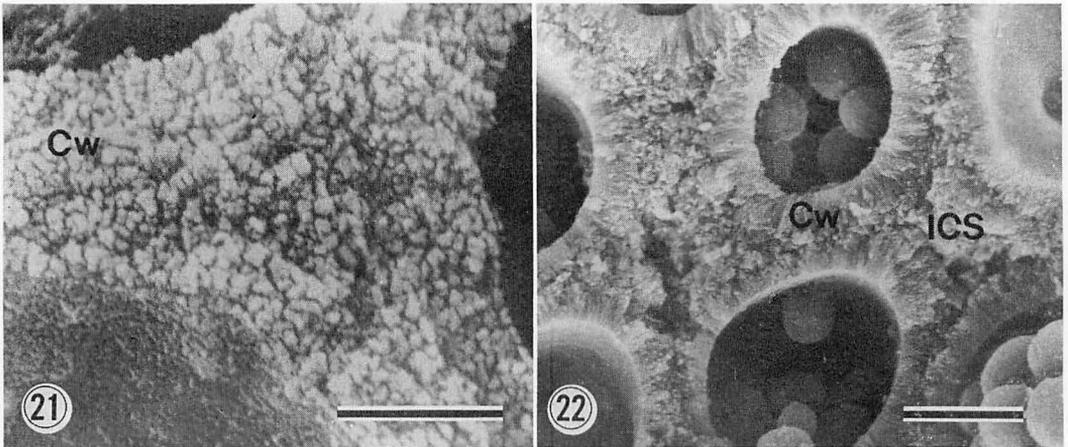
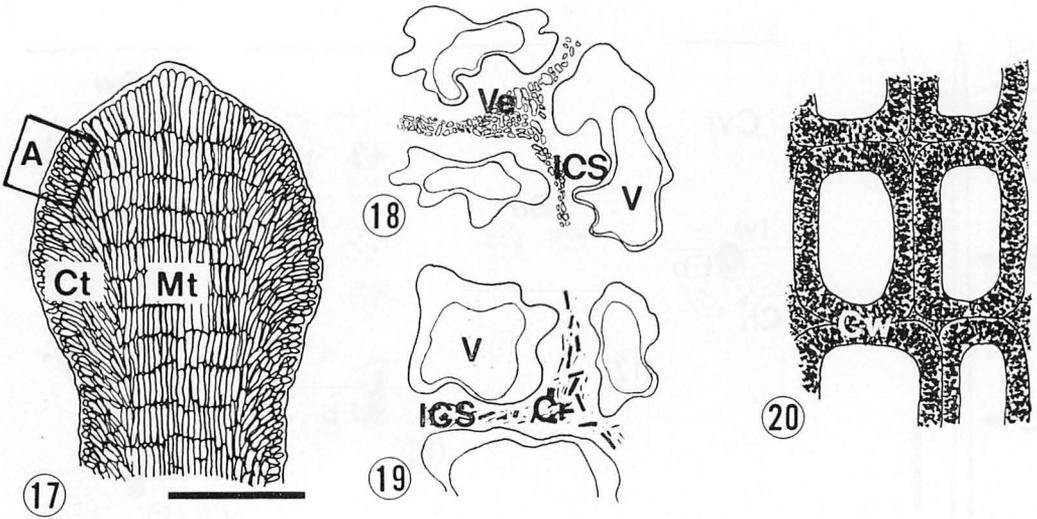
3. 紅藻

(1)サンゴモ科 (Figs 17-22)

石灰化開始部位：これらの藻は細胞壁が完全に石灰化する。細胞間隙は殆ど存在しないが、やはり石灰化が見られる。石灰化過程を有節サンゴモ亜科のオオシコロ (*Serraticardia maxima*) で追跡すると、藻体先端 (第一節間部の先端) の最も age の若い部分で石灰化が開始される (MIYATA *et al.* 1980) (Fig. 17)。分裂細胞近隣の組織の細胞間隙にまず大小の小胞が集まり (Fig. 18)、小胞が消えるに伴って微小な棒状の結晶が出現する (Fig. 19)。この結晶は細胞間隙の有機物質中で形成され、生長するものと思われる。石灰化は細胞の age と共に進行し、細胞間隙及び細胞壁は顆粒状の CaCO₃ 結晶で埋め尽くされる (Fig.



Figs 10-14. Schematic diagrams of calcification processes in the stalk of *Acetabularia*. Bu, bur-like calcified body; Ch, chloroplast; Cr, aragonite crystal; Cw, cell wall; Eb, electron-dense material; Iw, inner cell wall; Ow, outer cell wall. Fig. 10. Young habit of *A. calyculus*. Scale = 1 cm. Fig. 11. Secretion of electron-dense material from the cytoplasm into inner cell wall near the tip of the stalk (A in Fig. 10). Large amounts of Ca were detected in the material by X-ray microanalysis. Fig. 12. Bur-like calcified body in the cell wall near A in Fig. 10, but at more basal part of the stalk than in Fig. 11. Fig. 13. Small aragonite crystals in the cell wall at the middle part of the stalk (B in Fig. 10). A cluster of small crystals is formed from a bur-like body. Fig. 14. Mature and calcified cell wall at the basal part of the stalk (C in Fig. 10). Note an outer CaCO_3 -free wall layer. Fig. 15. Transmission electron micrograph of bur-like body in the cell wall of the stalk of *A. calyculus*. Note minute crystals on the surface of the body. No staining. Scale = $1 \mu\text{m}$. Fig. 16. Transmission electron micrograph of the heavily calcified cell wall of the stalk of *A. calyculus*. No staining. Scale = $10 \mu\text{m}$.



Figs 17-20. Schematic diagrams of calcification processes in Corallinaceae (OKAZAKI 1979). Ct, cortical tissue; Cr, calcite crystal; Cw, cell wall; ICS, intercellular space; Mt, medullary tissue; V, vacuole; Ve, small vesicle. Fig. 17. Longitudinal section of a terminal segment of *Serraticardia maxima*. Scale = 1 mm. Fig. 18. Small vesicles accumulated in the ICS of the subapical cell (A in Fig. 17). Fig. 19. Rod-shaped crystals in the ICS of the subapical cell. Fig. 20. Heavily calcified ICS and cell wall. Figs 21-22. Scanning electron micrographs of calcified ICS and cell wall of *S. maxima* (Fig. 21; cortical cell) and *Lithophyllum okamurae* (Fig. 22; cell in perithallium). Scale = 1 μ m (Fig. 21), 5 μ m (Fig. 22).

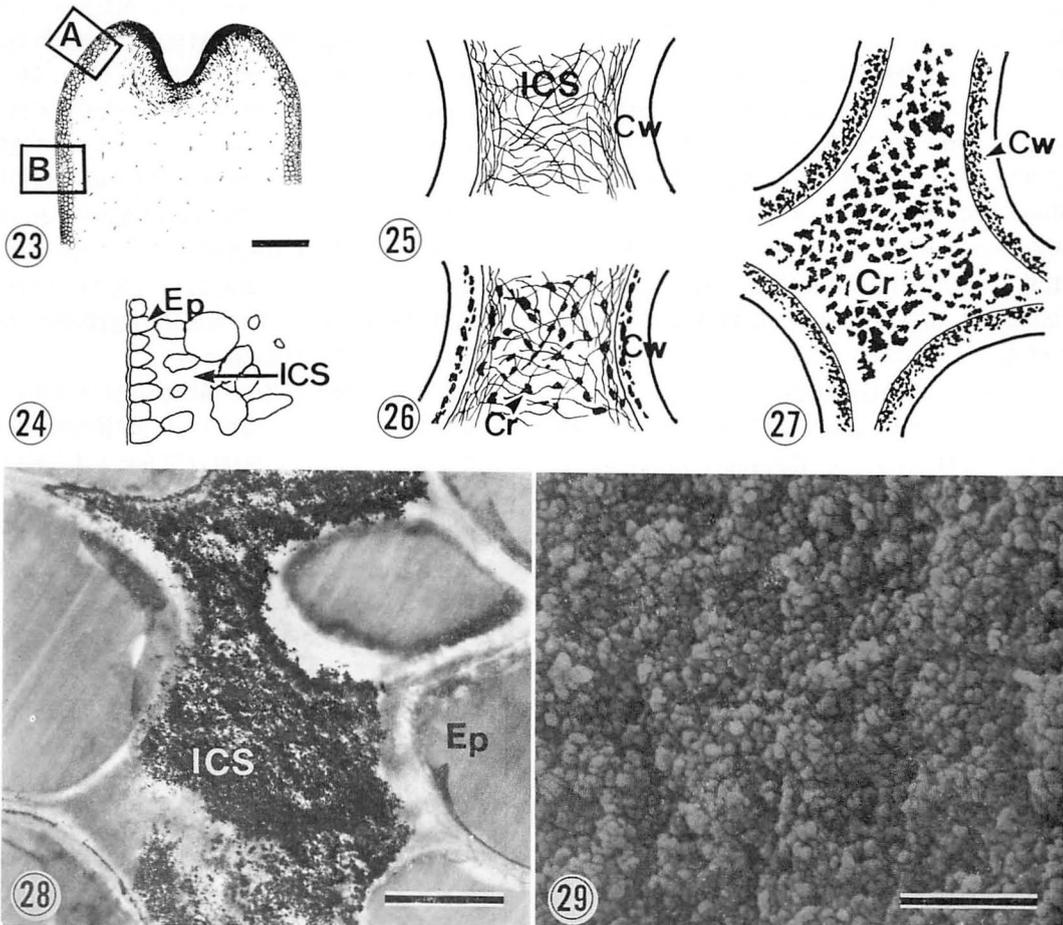
20)。結晶沈着に先立って細胞間隙に出現する小胞は、骨形成等で観察されている基質小胞 (matrix vesicle) (小沢 1975) と同じものかどうかは不明である。Fig. 21 はオオソコロの石灰化した細胞壁の走査型電顕像を示す。無節サンゴ亜科の石灰化も有節のものと同様に進行するものと考えられる。Fig. 22 は無節サンゴ亜科のヒライボ (*Lithophyllum okamurae*) の走査型電顕像である。

光合成との関連：明所と暗所での石灰化速度を比較すると、明所で数倍促進されるという報告 (岡崎ら 1970) 及びその促進程度は有節サンゴ類の藻体先端から基部に向かって生理学的勾配があり、age の若い節間部程促進されるという報告 (PEARSE 1972, BOROWITZKA 1979, LA VELLE 1979), また光合成時の pH の上昇と CO_3^{2-} の増加が石灰化の促進と密接に関連していることを論じたもの (SMITH and ROTH 1979,

BOROWITZKA 1981) など多くの生理学的な研究がある。これらの藻は海水より HCO_3^- を細胞内に取り込み、 $\text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CO}_2 + \text{OH}^-$ の反応により CO_2 を光合成の基質として利用し、副産物の OH^- を一種の半閉鎖空間である細胞間隙又は細胞壁へ局所的に排出して、海水から拡散で供給される HCO_3^- を更に解離して CO_3^{2-} を形成するのではないと思われる。つまり前述のサボテングサ属の細胞間隙における石灰化機構がほぼそのままではまると思われる。

Ca 輸送系: 著者の一人岡崎 (OKAZAKI 1977) はサンゴモ科石灰藻に Ca^{2+} 活性化 ATPase を見出し出しているが、その働き及び細胞内の局在性は不明である。前述の様に石灰化は細胞壁及び細胞間隙で起こるが、この部位は各種炭酸イオン (HCO_3^- , CO_3^{2-}) や Ca^{2+} が細胞壁を介して拡散によって供給される半閉鎖空間と考えることができるので、 Ca^{2+} の能動輸送を必要としないかも知れない。

CaCO_3 結晶・有機基質: Mg を含む方解石で粒状



Figs 23-27. Schematic diagrams of calcification processes in *Galaxaura*. Cr, aragonite crystal; Cw, cell wall; Ep, epidermal cell; ICS, intercellular space. Fig. 23. Longitudinal section of a terminal segment of *G. fastigiata*. Scale = 200 μm . Fig. 24. Detailed structure of region A in Fig. 23. Note the well-developed ICS separated from the external seawater by a layer of epidermal cells. Fig. 25. Fibrous material filling the ICS of the young cortical tissue (A in Fig. 23). Fig. 26. Aragonite crystals in the ICS and cell wall of the young cortical tissue (A in Fig. 23). Fig. 27. Heavily calcified ICS of the mature cortical tissue (B in Fig. 23). Note partially calcified cell wall. Fig. 28. Transmission electron micrograph of the mature cortical tissue (B in Fig. 23) of *G. fastigiata*. No staining. Scale = 5 μm . Fig. 29. Scanning electron micrograph of granular aragonite crystals in the ICS of the mature cortical tissue (B in Fig. 23) of *G. fastigiata*. Scale = 0.5 μm .

を呈する (Figs 21, 22)。細胞壁に Ca^{2+} の大きなプールが存在すること、またこれは主に壁の Ca^{2+} 結合物質に基くものであることを BOROWITZKA (1979) が指摘した。著者ら (OKAZAKI *et al.* 1982) がそのような物質を探したところ、オオソコロ、ミヤベオコシ (*Lithothamnion japonica*) 等のサンゴモ科石灰藻にアルギン酸が見つかった。またこのアルギン酸が石灰化部位に局在していることも組織化学的手法によって明らかになった (岡崎ら 1984)。なおアルギン酸は褐藻の特徴的な細胞間物質として従来から良く知られていたウロン酸多糖であり、褐藻以外の藻で発見されたのはこれが最初である。この紅藻アルギン酸を使ってシリカゲル法 (NICKL and HENISCH 1969) を用いて *in vitro* で CaCO_3 形成実験を試みたところ、強力なアラレ石誘導能をもつ Mg^{2+} (KITANO and HOOD 1962) 存在下でも、アルギン酸を添加すれば方解石が形成されることが判った (和田ら 1984)。この事実はサンゴモ科石灰藻の結晶が Mg を含む方解石であること (GOLDSMITH *et al.* 1955) から見て重要である。

(2) ガラガラ属 (Figs 23-29)

石灰化開始部位: 著者ら (OKAZAKI *et al.* 1982) はガラガラ科のガラガラ (*Golaxaura fastigiata*) について調べた。その結果、この藻においても藻体先端の最も *age* の若い部位で石灰化が開始されることが判った (Figs 23, 24)。 CaCO_3 結晶はこの部位の良く発達した細胞間隙の有機物質の上にまず出現し (Figs. 25, 26)、細胞の成熟に伴って細胞間隙を完全に埋め尽くし、最終的には細胞壁にも石灰化が及ぶ (Figs 26, 27)。この様に石灰化が開始される細胞間隙は一層の表皮細胞で外部海水から隔離された半閉鎖空間であり、藻体表面は決して石灰化しない。Fig. 28 は石灰化が完了した細胞間隙と細胞壁の透過型電顕像を、Fig. 29 は細胞間隙の粒状結晶 (直径約 $0.05 \mu\text{m}$) を走査型電顕で観察したものである。

光合成との関連: この藻の石灰化と光合成との生理学的関係を論じた研究は無い。しかし石灰化開始部位が良く発達した細胞間隙であること、その近隣には成熟した葉緑体をもつ細胞が分布することから、前述の緑藻サボテンガサ属に見られる機構で石灰化が進行すると考えられる。

Ca 輸送系: 細胞壁を介する拡散によるものと思われる。

CaCO_3 結晶・有機基質: 粒状 (直径約 $0.05 \mu\text{m}$) のアラレ石である。最初の CaCO_3 結晶は細胞間隙中の

有機物質上に出現する。この有機物質の高電子密度部分を分析用電子顕微鏡で分析すると、Ca と共に S が検出されるので (OKAZAKI *et al.* 1982)、硫酸基をもつ酸性多糖が結晶形成と生長に関与する可能性もあるが、詳細は不明である。

(3) コナハマダ属 (Figs 30-34)

石灰化開始部位: 白戸 (1984) は著者らと共にベネモツク科のケコナハマダ (*Liagora farinosa*) の石灰化過程を調べた。藻体は髄部と皮層部に分化し、皮層部は同化系から成る光合成組織であり、細胞間隙が良く発達している (Fig. 30 c)。皮層部の若い細胞の周辺には、多糖類と思われる物質が分泌され (Fig. 31)、この物質が互いに接する間隙にまず微小な結晶が出現する (Fig. 32)。その後、細胞の肥大に伴って細胞間隙は針状結晶 (長さ約 $1 \mu\text{m}$, 幅約 $0.1 \mu\text{m}$) で埋め尽くされる (Fig. 33)。細胞壁には石灰化は見られない。髄部近隣の細胞間隙も石灰化するが、この部位の結晶は皮層部のものに比べて繊細である (長さ約 $1 \mu\text{m}$, 幅約 $0.05 \mu\text{m}$)。Fig. 34 は皮層部の細胞間隙に沈着した針状結晶の走査型電顕像である。

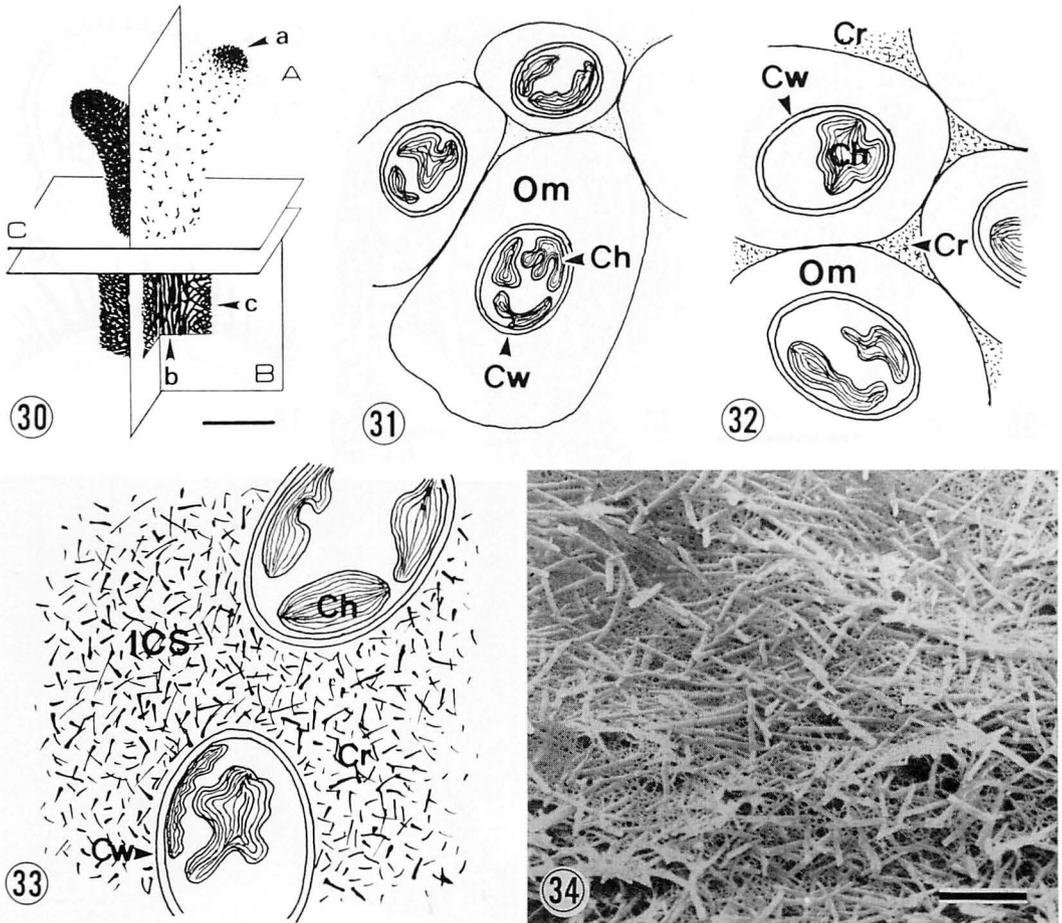
光合成との関連: 石灰化が開始され進行する皮層部の細胞間隙は、海水から隔離された半閉鎖空間である。同化組織の光合成がこの空間の石灰化に大きく寄与することは間違いない。これは石灰化開始部位付近には成熟した葉緑体をもつ細胞が存在することや、光合成組織である皮層部の結晶は髄部近くのものに比べて良く生長していること等からも示唆される。

Ca 輸送系: 海水より拡散によって供給されると思われる。

CaCO_3 結晶・有機基質: すべて針状 (皮層部: 長さ約 $1 \mu\text{m}$, 幅約 $0.1 \mu\text{m}$; 髄部: 長さ約 $1 \mu\text{m}$, 幅約 $0.05 \mu\text{m}$) のアラレ石である。紅藻で針状結晶を沈着するのはこの仲間に限られる。白戸 (1984) は、石灰化した細胞間隙に酸性多糖が分布することを明らかにし、この多糖を単離して *in vitro* での CaCO_3 沈着に及ぼす影響について前述のシリカゲル法で検討した。その結果、この物質はアラレ石を誘導する能力がないことがわかった。恐らくは Ca^{2+} と共に細胞間隙に拡散してくる Mg^{2+} の働きによってアラレ石が形成されると思われる。現時点では方解石を誘導する物質はあってもアラレ石を誘導する物質が見つかっていないことは注目に値する (KITANO *et al.* 1965, 1969)。

4. 褐藻 (Figs 35-40)

褐藻植物門に属する藻で石灰化が見られるものは、藻体の構造が最も単純な同型世代網に属するウミウチ

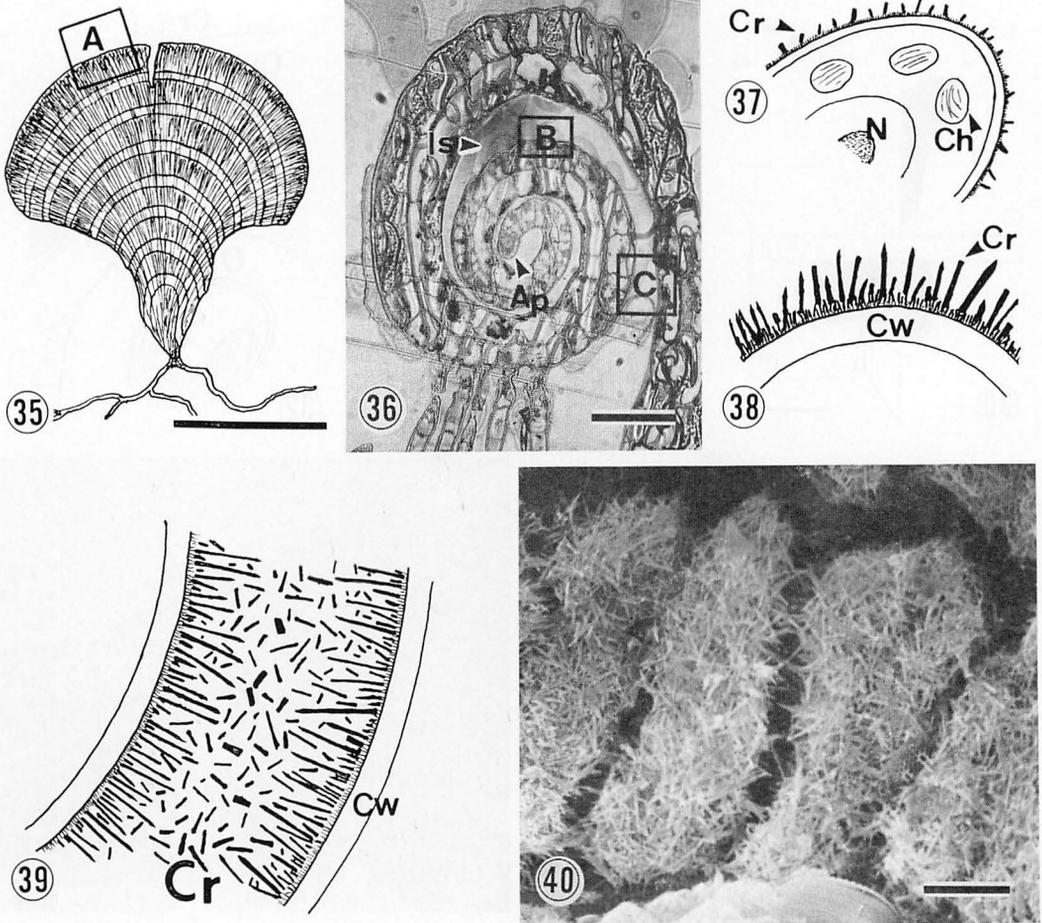


Figs 30-33. Schematic diagrams of calcification processes in *Liagora*. Ch, chloroplast; Cr, aragonite crystal; Cw, cell wall; ICS, intercellular space; Om, organic material. Fig. 30. Structure of the thallus of *L. farinosa* (SHIROTO 1984). A and C, terminal segment; B, aged segment; a, tip of terminal segment; b, medullary tissue of aged segment; c, cortical tissue of aged segment. A and B, C show a native and decalcified segment, respectively. Scale = 1 mm. Fig. 31. Organic material around the young cells of the terminal segment (A-a in Fig. 30). Fig. 32. Small crystals outside the organic material (A-a in Fig. 30). Fig. 33. Needle-shaped aragonite crystals filling the ICS of the mature cortical tissue of the terminal segment. Fig. 34. Scanning electron micrograph of needle-shaped aragonite crystals in the ICS of the mature cortical tissue of *L. farinosa*. Note the network of organic matrix around the crystals. Scale = 1 μ m.

ワ属 (*Padina*) の幾つかの種に限られる (BOROWITZKA 1982b)。

石灰化開始部位: 著者の一人岡崎ら (OKAZAKI *et al.* 1985) はオキナウチワ (*Padina japonica*) についてその石灰化過程を調べた。扇状の藻体 (Fig. 35) は縁辺生長するが、藻体縁辺に位置する頂端細胞の表面で石灰化が開始される。この部位は藻体縁辺が巻き込んで形成される特殊な半閉鎖空間 (巻き込み空間) 内に位置する (Fig. 36)。Fig. 37 はその巻き込み空間で頂端細胞

の壁表面の毛状繊維上で形成された微小な顆粒結晶を示す。この結晶は細胞壁表面に対してほぼ垂直に生長して針状を呈する様になる (Figs 38, 39)。藻体の生長に伴って、細胞壁に付着した結晶は藻体表面 (腹面及び背面) に現われ、外部海水へ露出した状態となる。この藻体表面の結晶は生長して良く発達した針状結晶 (長さ約 2 μ m, 幅約 0.5 μ m) となる。しかし藻体の age の進んだ基部付近では、結晶が溶解し再結晶したと思われる像も観察される (宮田ら 1977)。Fig. 40 は藻体表



Figs 35, 37-39. Schematic diagrams of calcification processes in *Padina*. Ap, apical cell; Ch, chloroplast; Cr, aragonite crystal; Cw, cell wall; Is, inrolling space; N, nucleus. Fig. 35. Young habit of *P. japonica*. Scale = 0.5 cm. Fig. 36. Light micrograph of longitudinal section through the margin (A in Fig. 35) of a fan-shaped thallus of *P. japonica*. No staining. Scale = 100 μm . Region B and C show the parts studied here. Fig. 37. Small crystals on the pilose layer of the cell wall of the apical cell. Fig. 38. Needle-shaped aragonite crystals on the outer surface of the young cell (B in Fig. 36). Note the crystals oriented perpendicularly to the cell surface. Fig. 39. Well-developed aragonite crystals filling the inrolling space (C in Fig. 36). Fig. 40. Scanning electron micrograph of needle-shaped crystals on the ventral (upper) surface near the margin of the thallus of *P. japonica*. Scale = 10 μm . A cluster of the crystals corresponds to one cell located on the outer surface.

面(腹面)に沈着した針状結晶の走査型電顕像である。

光合成との関連: 巻き込み空間の石灰化が開始され進行する部位に隣接する細胞中には既に葉緑体が成熟しているので、光合成時に同空間の pH の上昇、 CO_3^{2-} の増加が十分に期待される。

Ca 輸送系: 石灰化開始部位は外部海水に比較的近いことから、緩慢な拡散で HCO_3^- は勿論、 Ca^{2+} も供給されると思われる。

CaCO_3 結晶・有機基質: 良く発達した針状のアラゴ石(長さ約 2 μm , 幅約 0.5 μm)である。 Mg^{2+} の働きによりアラゴ石が形成されている可能性が強い。巻き込み空間の、特に age の若い細胞の壁表面に付着している毛状物質が CaCO_3 結晶核として作用している様であるが、この物質の化学的性質は不明である。このような毛状物質は石灰化しないウミウチワ (*Padina arborescence*) の巻き込み空間中の細胞には観察され

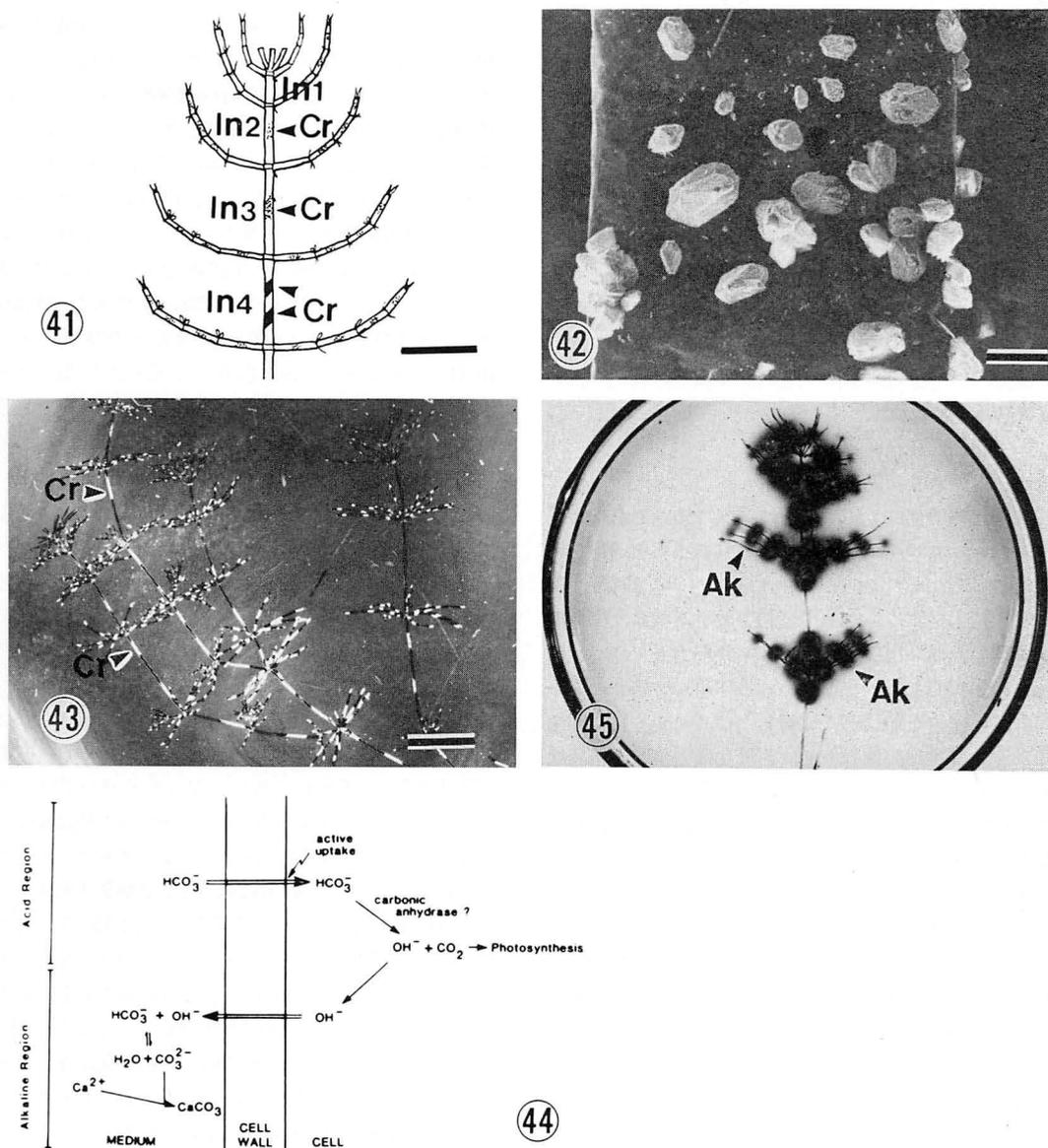


Fig. 41. Schematic diagram of calcification processes on the internodal cells of *Chara braunii*. Calcification is initiated on the second internodal cell (In2) from the tip, and the fourth internodal cell (In4) is encrusted with bands of CaCO_3 deposits (Cr). Scale = 1 cm. Fig. 42. Scanning electron micrograph of calcite crystals on the fourth internodal cell (In4 in Fig. 41) of *C. braunii*. Scale = 100 μm . Fig. 43. Photograph of calcified *C. braunii*. The photograph was taken under polarized light. Scale = 1 cm. Fig. 44. Schematic presentation of the major ion fluxes associated with photosynthesis (BOROWITZKA 1982b). Note OH^- efflux in alkaline region which causes CaCO_3 deposition. Fig. 45. Alkaline bands (Ak) formation under illumination by *C. braunii* embedded in 0.5% agarose gel. The gel was prepared with an artificial culture medium containing 0.2 mM NaHCO_3 and 0.1 mM phenol red (pH-indicator).

ない (OKAZAKI *et al.* 1985)。褐藻の中でもウミウチワ属の限られた種のみが石灰化すること、石灰化しないウミウチワにもオキナウチワと同様に特殊な巻き込み空間が存在すると同時に、光合成時には背腹両表面が著しくアルカリ性を呈すること、*Padina pavonica* は腹面のみしか石灰化しないこと (OKAZAKI *et al.* 1985) 等を考え合わせると、前述の毛状物質の有無とは別に、石灰化を阻害する何らかの機構を想定することが出来る。CaCO₃ 結晶生長の阻害物質として、ポリフェノール等が知られているが、褐藻には特にこの種のフェノール類が多いことから、この様な成分の特に少ない種のみが石灰化するとも考えられる (BOROWITZKA 1982b)。

5. 車軸藻 (Figs 41-45)

唯一の淡水産石灰藻である。

石灰化開始部位: Fig. 41 は室内で培養したシャジクモ (*Chara braunii*) の節間細胞の石灰化過程を模式的に示したものである (OKAZAKI *et al.* 1985)。藻体は先端生長するが、まず最初の微小な結晶は第2節間細胞の表面に出現する。第3節間細胞上ではこれらが更に生長して方解石と思われる多角形の結晶となる。Fig. 42 は第4節間部に沈着した結晶の走査型顕像である。第4節間細胞上では石灰化は完了し、結晶はバンド状に沈着する。バンドは普通2~3個形成される。細胞壁そのものは石灰化しない。Fig. 43 は石灰化した藻体を偏光下で観察したもので、白く光っている部分がCaCO₃結晶の沈着バンドに相当する。この様な石灰化はオオシャジクモ (*Chara corallina*) やフラスモ属 (*Nitella*) 及びフラスモダマシ属 (*TolyPELLA*) のものにおいても知られており (今堀 1954, SMITH 1968), 石灰化開始部位が外部メディアムに露出している点に特徴がある。またメディアム中に十分なCa²⁺が存在しないと石灰化は起きない点も海産石灰藻とは異なる。節間細胞とは別に、生卵器が石灰化することも知られている (BOROWITZKA 1982b)。この場合、卵胞子が受精すると卵胞子の細胞壁とそれを螺旋状に取り囲む栄養細胞の卵胞子に接する側の細胞壁が著しく肥厚し、両細胞壁を構築する有機層が複雑に変化して両壁が石灰化することが最近明らかにされた (LEITCH 1985)。その際シャジクモ属では石灰化した細胞壁の断面像がU字型をしており (U字型石灰化)、シラタマモ属 (*Lamprothamnium*) ではY字型を呈する (Y字型石灰化) ので、生卵器の化石から属の同定ができる。この様に生卵器の石灰化過程は前述の節間細胞表面でのものより複雑である。

光合成との関連: 生理学的研究からシャジクモ属やフラスモ属の節間細胞表面には、アルカリ域 (pH 9.5~10) と酸性域 (pH 5~6) が交互にバンド状に出現することが知られている (SMITH 1968, SPEAR *et al.* 1969, LUCAS and SMITH 1973)。この両バンドは光合成時のみ形成されることから、光合成時のHCO₃⁻の利用と密接に関連することが明らかにされている (LUCAS 1976, 1979)。このアルカリバンド形成の仕組みとCaCO₃沈着機構との関連をオオシャジクモを例にして模式的に示したのがFig. 44である (BOROWITZKA 1982b)。この図は光合成の炭素源としてHCO₃⁻を節間細胞の或る限られた部位から取り込みCO₂を固定し、副産物として形成されるOH⁻を別の限られた部位から排出することを示している。そのためOH⁻の排出部位ではHCO₃⁻が更に解離してCO₃²⁻になり、これがCa²⁺と反応することを示している。この図ではHCO₃⁻取り込み域が酸性バンドと一致させてあるが、実際には酸性バンド形成の仕組みは良くわかっていない。著者の一人岡崎ら (OKAZAKI *et al.* 1985) はシャジクモを寒天に包埋するといった独特な方法で光合成時にアルカリバンドが形成されることを示した (Fig. 45)。寒天中にはNaHCO₃及びpH指示薬フェノールレッド (変色域、pH6.4-8.2) が添加してあり、アルカリバンドは赤色域をつくり出す。Fig. 45 が示す様に赤色域は軸及び輪生枝の上に明瞭に観察される。このアルカリバンド形成能は光合成阻害剤DCMU及び炭酸脱水酵素の阻害剤Diamoxによってほぼ完全に阻害される。また*in vitro*の実験でアルカリバンド内にCaCO₃結晶が形成されることを証明した。この様にこの仲間の節間細胞上での石灰化は光合成と共役していることは間違いない。光合成に共役したOH⁻排出現象は淡水産種子植物のカナダモ (*Elodea canadensis*) やヒルムシロ (*Potamogeton lucens*) の葉でも知られており、葉の裏側よりHCO₃⁻を吸収して表側にOH⁻を放出する (PRINS *et al.* 1982, LUCAS 1983)。従ってメディアム中のCa²⁺濃度が高い場合にはこれらの葉の表側に薄くCaCO₃結晶が沈着することが観察されている (BOROWITZKA 1982b)。生卵器細胞壁の石灰化と光合成の関連については不明である。

Ca輸送系: 節間細胞の石灰化開始部位は外部メディアムに直接露出しているので輸送系は問題にならない。生卵器壁の石灰化も拡散により供給されると思われる。

CaCO₃結晶・有機基質: 節間細胞上の結晶塊 (縦約

120 μm , 横約 70 μm), 生卵器細胞壁中の結晶もすべて方解石である。後者の石灰化の場合には, 細胞壁中の多糖類が結晶核として作用する可能性は充分考えられるがその性質は不明である。また前者の節間細胞表面の石灰化の場合にも, 壁表面の物質の関与の可能性は否定できない。

結 論

以上, ハプト藻, 緑藻, 紅藻, 褐藻及び車軸藻に属する代表的な石灰藻について, 石灰化開始部位, 石灰化と光合成の関連, Ca 輸送系, CaCO_3 結晶形と有機基質との関連に焦点を当てて概説し, 石灰化機構を考察した。このうち, 石灰化開始部位においてはどの海産石灰藻にも共通した特徴が見られ, 海水とは直接連絡のない半閉鎖または閉鎖空間で石灰化が開始されることは特に注目に値する。この空間は或る種の石灰藻では細胞外であるが藻体内であるといった特殊な細胞間隙であり, 或る種では肥厚した細胞壁がこれに該当する。この様な藻体の部位では, (1) Ca^{2+} や CO_3^{2-} を濃縮して CaCO_3 の飽和溶液をつくる, (2) CaCO_3 が析出し易い母液をつくる, (3) CaCO_3 結晶の誘導や結晶形を決定するための有機基質の濃度を高める, 等の石灰化に必要な条件を一部満たすことが出来ると思われる。またいずれの多細胞石灰藻においても, 石灰化は藻体の最も若い部位で既に開始され, ほぼその近くで終了することについても指摘した。この事実は石灰化機構を解明するための生理・生化学的研究を行う場合には, 藻体の若い部分を実験に使う必要があることを意味する。従来の研究中にはこの配慮を欠いたものも多くあり, それらの論文の解析には注意しなければならない。次に生理学的立場から見た場合, 藻の石灰化の最も特徴的なのは石灰化機構が光合成と共役していると思われる点である。海産・淡水産を問わず, いずれの石灰藻においても, 光合成に伴う pH の上昇と CO_3^{2-} の形成が CaCO_3 沈着に大きく貢献していることが判ってきた。石灰藻に限らずあらゆる藻が, 光合成時に pH の上昇と CO_3^{2-} の増加を引き起こすと思われるが, 前述の特殊な空間の存在が, 石灰化の一つの鍵を握るものと考えられる。特に海水の緩衝能は淡水に比べて大きいので, 海産石灰藻では, 半閉鎖空間なくしては CaCO_3 形成に必要な充分な CO_3^{2-} の増加は期待出来ないであろう。これに関連して CaCO_3 を沈着する動物の場合, どの様な仕組みで石灰化部位の CO_3^{2-} 濃度が高められるか大変興味深い, サング骨格形成, 貝殻形成等ではまだよく判っていない様

である。

CaCO_3 形成のもう一つの生理学的側面, つまり石灰化部位への Ca^{2+} の供給の仕組みも, 石灰化開始部位の形態から推論できる。種々の石灰藻中, ハプト藻の円石藻類のみが生体膜を通しての Ca 輸送系が問題になるが, 他の石灰藻では海水からの拡散で十分に供給され得ると考えられている。しかし円石藻の場合にしても動物組織で知られている様ないわゆる「 Ca^{2+} -ポンプ」は存在しない様である。

石灰化部位に存在する有機物質は CaCO_3 結晶の核となり, 結晶生長を助け, 結晶形をも決定する可能性が以前から指摘されてきた。その様な物質として, 円石藻の石灰化した殻(ココリス)から単離された酸性多糖と, 紅藻サンゴモ科石灰藻の石灰化部位から単離されたアルギン酸が Ca^{2+} 結合能をもつことから注目されている。しかしココリス多糖に CaCO_3 結晶形成における上記の様な働きがあるか否かは明瞭ではない。これらの有機物質とは別に, CaCO_3 結晶の同質多形に及ぼす無機イオン, 例えば Mg^{2+} の影響も無視できない。既に述べた様に Mg^{2+} にはアラレ石を誘導する性質があることは良く知られており, 石灰化部位へ Mg^{2+} が Ca^{2+} と共に入り込むとすれば, アラレ石が形成され易いことになる。海水中には Mg^{2+} (50 mM) は Ca^{2+} (10 mM) の5倍量存在するのでこの可能性は強い。外部海水に比較的近い半閉鎖空間で石灰化が起こる仲間, 例えばサボテングサ属, カサノリ属(以上緑藻), ガラガラ属, コナハダ属(以上紅藻), ウミウチワ属(褐藻)等の石灰藻はすべてアラレ石を沈着する。これに対して, 細胞内(ハプト藻)または石灰化開始部位は外部海水と近くても, 強力な方解石誘導多糖であるアルギン酸を石灰化部位にもつもの(紅藻サンゴモ科)には方解石が形成される。この事実は Mg^{2+} の影響を強く示唆する。また, 海水中には微量の Sr^{2+} (約 8300 ppm) が含まれており, この元素は Ca^{2+} と同じような挙動をするため CaCO_3 結晶中にも混入することが知られている。アラレ石に混入し得る Sr^{2+} の推定値と, 上記緑藻石灰藻のアラレ石に含有されている Sr^{2+} を比較するとほぼ同じであることから, これらの藻では Sr^{2+} を生理的に選択していないことが明らかになった(KINSMAN 1969)。 Mg^{2+} に対して生理的選択が働かないとは言えないが, これらの藻の石灰化開始部位の CaCO_3 形成の母液は海水に近いとも考えられる。またアラレ石を誘導する性質のある有機物質がまだ発見されていないことも興味深い。いずれにせよ, CaCO_3 結晶の形成及びその同質多形に関する *in vitro*

の物理・化学的研究が乏しいことが CaCO_3 沈着機構を解明する上で大きな障害になっていることは否めない。

最後に藻における石灰化の意義とその様な性質を獲得するに至った経緯について考察したい。石灰藻を酸で処理して脱灰すると、いずれも軟弱な藻体が残る。従って、石灰化の意義として、軟らかい藻体を CaCO_3 沈着によって固めて頑強なものにする支持機構を考えることが出来る。その際、細胞間隙又は壁に含有される Ca^{2+} 結合能をもつウロン酸多糖、例えばペクチン様物質が細胞又は糸状の藻体を相互に接着させることである程度目的が果たせる。しかし或る種の藻は、更に藻体を頑強にするためにウロン酸多糖と、藻の基本的代謝の一つである光合成をうまく利用して石灰化能を獲得したのではなからうか。しかしその反面、石灰化することは組織や器官の分化には大きな障害であることは容易に推論できる。他方、石灰化しない藻では前述のペクチン様物質の代りにセルロースに富んだ強固でかつ弾力性に富んだ細胞壁が形成され、組織・器官の分化も容易になったものと考えられる。また藻がフェノール物質等を形成して、細胞間隙や壁へ分泌し始めることが石灰化を阻止する原因となったと思われる。ポリフェノール類は CaCO_3 結晶形成を阻害することが知られており、例えばフェノール物質の含量の多い褐藻植物では、体の構造が単純な同型世代綱に属するウミウチワ属の或る限られた種のみが石灰化能を備えているに過ぎない。藻体の体制が進んだ、異型世代綱、更に体制の分化の進んだホンダワラ等の円孢子綱には石灰化するものは見られない。或る種のフェノール類はリグニンを形成し、細胞壁をより強固でかつ弾力性をも備えたものに変えることは周知のことである。

この様に、細胞壁及び細胞間隙の成分の変遷と石灰化とは密接な関係にあるのではないかと思われ、今後に残された興味ある課題である。

稿を終るに当たり本稿を校閲いただいた東京教育大学名誉教授 西沢一俊博士及び英文を校閲いただいたオーストラリアの Murdoch 大学の BOROWITZKA 博士に厚くお礼申し上げる。また図及び原稿の作製に御協力いただいた東京学芸大学生物学教室岡崎研究室の瀬戸口浩彰、鹿嶋京子両氏にもお礼申し上げます。

引用文献

- ARIOVICH, D. and PIENAAR, R. N. 1979. The role of light in the incorporation and utilization of Ca^{2+} ions by *Hymenomonas carterae* (BRAARUD et FAGERL.) BRAARUD (Prymnesiophyceae) Br. phycol. J. 14: 17-24.
- BLACK, M. 1965. Coccoliths. Endeavour 24: 131-137.
- BÖHM, L., FÜTTERER, D. and KAMINSKI, E. 1978. Algal calcification in some Codiaceae (Chlorophyta): Ultrastructure and location of skeletal deposits. J. Phycol. 14: 486-493.
- BÖHM, E. L. and GOREAU, T. F. 1973. Rates of turnover and net accretion of calcium and the role of calcium binding polysaccharides during calcification in the calcareous alga *Halimeda opuntia* (L.). Int. Revue ges. Hydrobiol. 58: 723-740.
- BORMAN, A. H., DE JONG, E. W., HUIZINGA, M., KOK, D. J., WESTEBROEK, P. and BOSCH, L. 1982. The role in CaCO_3 crystallization of an acid Ca^{2+} -binding polysaccharide associated with coccoliths of *Emiliania huxleyi*. Eur. J. Biochem. 129: 179-183.
- BOROWITZKA, M. A. 1977. Algal calcification. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 15: 189-223.
- BOROWITZKA, M. A. 1979. Calcium exchange and the measurement of calcification rates in the calcareous coralline alga *Amphiroa foliacea*. Mar. Biol. 50: 339-347.
- BOROWITZKA, M. A. 1981. Photosynthesis and calcification in the articulated coralline algae *Amphiroa anceps* and *A. foliacea*. Mar. Biol. 62: 17-23.
- BOROWITZKA, M. A. 1982a. Morphological and cytological aspects of algal calcification. Int. Rev. Cytol. 74: 127-162.
- BOROWITZKA, M. A. 1982b. Mechanisms in algal calcification. p. 137-177. In F. E. ROUND and D. J. CHAPMAN [ed.] Progress in phycological research, Vol. 1. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- BOROWITZKA, M. A. and LARKUM, A. W. D. 1976a. II. The exchange of Ca^{2+} and the occurrence of age gradients in calcification and photosynthesis. J. exp. Bot. 27: 864-878.
- BOROWITZKA, M. A. and LARKUM, A. W. D. 1976b. Calcification in the green alga *Halimeda*. III. The sources of inorganic carbon for photosynthesis and calcification and a model of the mechanism of calcification. J. exp. Bot. 27: 879-893.
- BOROWITZKA, M. A. and LARKUM, A. W. D. 1976c. Calcification in the green alga *Halimeda*. IV. The action of metabolic inhibitors on photosynthesis and calcification. J. exp. Bot. 27: 894-907.
- BOROWITZKA, M. A. and LARKUM, A. W. D. 1977. Calcification in the green alga *Halimeda*. I.

- An ultrastructure study of thallus development. *J. Phycol.* 13: 6-16.
- BOROWITZKA, M. A., LARKUM, A. W. D. and NOCKOLDS, C. E. 1974. A scanning electron microscope study of the structure and organization of the calcium carbonate deposits of algae. *Phycologia* 13: 195-203.
- DE JONG, E. W., BOSCH, L. and WESTBROEK, P. 1976. Isolation and characterization of a Ca^{2+} -binding polysaccharide associated with coccoliths of *Emiliana huxleyi* (LOHMANN) KAMPTNER. *Eur. J. Biochem.* 70: 611-621.
- FICHTINGER-SCHPEMAN, A. M. J., KAMERLING, J. P., Vliegenthart, J. F. G., DE JONG, E. W., BOSCH, L. and WESTBROEK, P. 1979. Composition of a methylated, acidic polysaccharide associated with coccoliths of *Emiliana huxleyi* (LOHMANN) KAMPTNER. *Carbohydr. Res.* 69: 181-189.
- GOLDSMITH, J. R., GRAF, D. L. and JOENSUU, O. I. 1955. The occurrence of magnesium calcites in nature. *Geochim. Cosmochim. Acta* 7: 212-230.
- GOREAU, T. F. 1963. Calcium carbonate deposition by coralline algae and corals in relation to their roles as reef-builders. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 109: 127-167.
- HODGES, T. K. 1976. ATPases associated with membranes of plant cells. p. 260-283. *In* U. LÜTTGE and M. G. PITMAN [ed.] *Encyclopedia of plant physiology*, New Series Vol. 2. Springer-Verlag, Berlin.
- 今堀宏三 1954. 日本産輪藻類総説. 金沢大学, 東京.
- INOUE, I. and CHIHARA, M. 1979. Life history and taxonomy of *Cricosphaera roscoffensis* var. *haptanemofera*, var. nov. (class Prymnesiophyceae) from the Pacific. *Bot. Mag. Tokyo* 92: 75-87.
- KINSMAN, D. J. J. 1969. Interpretation of Sr^{2+} concentrations in carbonate minerals and rocks. *J. Sed. Petr.* 39: 486-508.
- KITANO, Y. and HOOD, D. W. 1962. Calcium carbonate crystal forms formed from sea water by inorganic processes. *J. Oceanogr. Soc. Japan* 18: 141-145.
- KITANO, Y. and HOOD, D. W. 1965. The influence of organic material on the polymorphic crystallization of calcium carbonate. *Geochim. Cosmochim. Acta* 29: 29-41.
- KITANO, Y., KANAMORI, N. and TOKUYAMA, A. 1969. Effects of organic matter on solubilities and crystal form of carbonates. *Am. Zoologist* 9: 681-688.
- LA VELLE, J. M. 1979. Translocation in *Calliarthron tuberculosum* and its role in the light-enhancement of calcification. *Mar. Biol.* 55: 37-44.
- LEITCH, A. 1985. An investigation into the calcified charophyte oosporangium. p. 14. *In* the abstracts titled 'Biomineralization in lower plants and animals' of an internat. symp. at the Univ. of Birmingham, England, April 1885.
- LUCAS, W. J. 1976. Plasmalemma transport of HCO_3^- and OH^- in *Chara corallina*: Non-antiporter systems. *J. exp. Bot.* 27: 19-31.
- LUCAS, W. J. 1979. Alkaline band formation in *Chara corallina*. Due to OH^- efflux or H^+ influx? *Plant. Physiol.* 63: 248-254.
- LUCAS, W. J. 1983. Photosynthetic assimilation of exogenous HCO_3^- by aquatic plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 34: 71-104.
- LUCAS, W. J. and SMITH, F. A. 1973. The formation of alkaline and acid regions at the surface of *Chara corallina* cells. *J. exp. Bot.* 24: 1-14.
- 宮田昌彦・岡崎恵視・古谷庫造 1977. 石灰褐藻オキナウチワの炭酸カルシウム沈着部位と結晶型について (藻類の炭酸カルシウム沈着の研究 I). *藻類* 25: 1-6.
- MIYATA, M., OKAZAKI, M. and FURUYA, K. 1980. Initial calcification site of the calcareous red alga *Serraticardia maxima* (YENDO) SILVA (Studies on the calcium carbonate deposition of algal III). p. 205-210. *In* M. OMORI and N. WATABE [ed.] *The mechanisms of biomineralization in animals and plants*. Tokai Univ. Press, Tokyo.
- 中原 皓 1981. 真珠層における有機相の形成と微細構造. p. 21-27. 軟体動物の研究. 大森昌衛教授還暦記念論文集刊行会.
- NAKAHARA, H. and BEVELANDER, G. 1978. The formation of calcium carbonate crystals in *Halimda incrassata* with special reference to the role of the organic matrix. *Jap. J. Phycol.* 26: 9-12.
- NICKL, H. J. and HENISCH, H. K. 1969. Growth of calcite crystals in gels. *Solid State Sci.* 116: 1258-1260.
- OHSUMI, Y. and ANRAKU, Y. 1983. Calcium transport driven by a proton motive force in vacuolar membrane vesicles of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 258: 5614-5617.
- OKAZAKI, M. 1977. Some enzymatic properties of Ca^{2+} -dependent adenosine triphosphatase from a calcareous red alga, *Serraticardia maxima* and its distribution in marine algae. *Bot. Mar.* 20: 347-354.
- 岡崎恵視 1979. 藻類の石灰化開始部位と石灰化機構について. *化石研究会会誌* 12: 31-36.
- OKAZAKI, M., FUJII, M., USUDA, Y. and FURUYA,

- K. 1984. Soluble Ca^{2+} -activated ATPase and its possible role in calcification of the coccolithophorid *Cricosphaera roscoffensis* var. *haptoneofera* (Haptophyta) (Studies on the calcium carbonate deposition of algae V). Bot. Mar. 27: 363-369.
- OKAZAKI, M., FURUYA, K., TSUKAYAMA, K. and NISIZAWA, K. 1982. Isolation and identification of alginic acid from a calcareous red alga *Serraticardia maxima*. Bot. Mar. 25: 123-131.
- OKAZAKI, M., ICHIKAWA, K. and FURUYA, K. 1982. Studies on the calcium carbonate deposition of algae-IV. Initial calcification site of calcareous red alga *Galaxaura fastigiata* DECAISNE. Bot. Mar. 25: 511-517.
- 岡崎恵視・猪川倫好・古谷庫造・西沢一俊・三輪知雄 1970. 石灰紅藻 *Serraticardia maxima* (オオンコロ) の炭酸カルシウム沈着について。植物学雑誌 83: 193-201.
- OKAZAKI, M. and KATSUMI, T. 1984. Calcification of the stalk of *Acetabularia calyculus*. Acetabularia Newslet. 1984(4): 7, 8.
- 岡崎恵視・白戸 爾・古谷庫造 1984. 石灰紅藻 オオンコロとミヤベオコンにおけるウロン酸多糖の局在性と石灰化部位との関連について (藻類の CaCO_3 沈着に関する研究VI)。藻類 32: 364-372.
- 岡崎恵視・高田真美・宮田昌彦 1977. 石灰緑藻ウチワサボテングサの炭酸カルシウム沈着部位と結晶型について (藻類の炭酸カルシウム沈着の研究II)。藻類 25: 189-194.
- OKAZAKI, M., TANAKA, Y., MIYATA, M. and PENTECOST, A. 1985. Initial calcification site of a calcareous brown alga *Padina japonica* YAMADA (Studies on the calcium carbonate deposition of alga VII). Br. phycol. J. (in press).
- OKAZAKI, M., TOKITA, M. and KASHIMA, K. 1985. Calcification of *Chara* caused by OH^- efflux coupled with photosynthesis. p. 18. In the abstracts titled 'Biomineralization in lower plants and animals' of an internat. symp. at the Univ. of Birmingham, England, April 1985.
- OUTKA, D.E. and WILLIAMS, D.C. 1971. Sequential coccolith morphogenesis in *Hymenomonas carterae*. J. Protzool. 18: 285-297.
- 小沢英浩 1975. 硬組織の超微細構造と石灰化。骨代謝 8: 227-265.
- PAASCHE, E. 1964. A tracer study of the inorganic carbon uptake during coccolith formation and photosynthesis in the coccolithophorid, *Coccolithus huxleyi*. Physiol. Pl., Suppl. 3: 5-82.
- PARK, P.K. 1969. Oceanic CO_2 system: An evaluation of ten methods of investigation. Limnol. Oceanogr. 14: 179-186.
- PEARSE, V.B. 1972. Radioisotopic study of calcification in the articulated coralline alga *Bossiella orbigniana*. J. Phycol. 8: 88-97.
- PENTECOST, A. 1980. Calcification in plants. Int. Rev. Cytol. 62: 1-27.
- PRINS, H.B.A., SNEL, J.F.H., HELDER, R.J. and ZANSTRA, P.E. 1980. Photosynthetic HCO_3^- utilization and OH^- excretion in aquatic angiosperms. Light-induced pH changes at the leaf surface. Plant Physiol. 66: 818-822.
- PUISEUX-DAO, S. 1970. *Acetabularia* and cell biology. Logos Press, London.
- 白戸 爾 1984. 石灰紅藻 コナハダ 属 (紅藻植物門) の石灰化機構について。東京学芸大学修士論文。
- SMITH, A.D. and ROTH, A.A. 1979. Effect of carbon dioxide concentration on calcification in the red coralline alga *Bossiella orbigniana*. Mar. Biol. 52: 217-225.
- SMITH, F.A. 1968. Rates of photosynthesis in Characean cells. II. Photosynthetic $^{14}\text{CO}_2$ fixation and ^{14}C -bicarbonate uptake by Characean cells. J. exp. Bot. 19: 207-217.
- SPEAR, D.G., BARR, J.K. and BARR, C.E. 1969. Localization of hydrogen ion and chloride ion fluxes in *Nitella*. J. gen. Physiol. 54: 397-414.
- VAN DER WAL, P., DE JONG, L., WESTBROEK, P. and DE BRUIJN, W.C. 1982. Calcification in the coccolithophorid alga *Hymenomonas carterae*. Ecological Bull. 35: 251-258.
- 和田徳雄・岡崎恵視・古谷庫造 1984. 炭酸カルシウム結晶生長に及ぼすアルギン酸の影響。日本藻類学会第8回大会講演要旨。藻類 32: 100.
- WILBUR, K.M., COLINVAUX, L.H. and WATABE, N. 1969. Electron microscope study of calcification in the alga *Halimeda* (order Siphonales). Phycologia 8: 27-35.
- WILBUR, K.M. and WATABE, N. 1963. Experimental studies on calcification in molluscs and the alga *Coccolithus huxleyi*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 109: 82-112.